云 南 植 物 研 究 2000，22（2）：161～165
Acta Botanica Yunnanica

大葱小孢子母细胞至二胞早期花粉发育的超微结构观察*

席湘媛
（山东农业大学生命科学院，山东 泰安 271018）

摘要：用电镜观察了章丘大葱（*Allium fistulosum* L.）从小孢子母细胞至二胞早期花粉发育的超微结构。终变期的花粉母细胞，胼胝壁外方的相邻初生壁间及胞间隙内，存在胞间物质，四分体期，此物质尚部分存在。小孢子母细胞减数分裂前，细胞质内含有脂滴，小孢子有丝分裂以后，脂滴增多增大。小孢子分裂后期，质体已积累淀粉粒 1 至多个。二胞早期花粉之营养细胞质内，有些含淀粉质体亦含脂滴。各发育期，核糖体及多聚合糖体丰富，并有很多的粗面内质网、高尔基体及小泡、线粒体，显示蛋白质、糖类及其它物质合成及运输作用的活跃。小孢子缺中央大液泡。有丝分裂后期，细胞器集中于未来的营养细胞极。小孢子胞质分裂期，有些内质网贴近或与花粉质膜相连，它们或有可能互相融合，扩大质膜面积而适应花粉的生长。还讨论了不同时期高尔基体小泡的作用。

关键词：大葱；花粉发育；细胞质；超微结构
中图分类号：Q 944　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253－2700（2000）02－0161－08

Observations on Ultrastructure of Pollen Development from Microsporocyte to Early Two－Celled Pollen in Welsh Onion（*Allium fistulosum*）

XI Xiang－Yuan
（*College of Life Sciences*，*Agricultural University of Shandong*，Taian 271018）

Abstract：The ultrastructure of pollen development from microsporocyte to early 2－celled pollen in Welsh onion cv. Zhangqui was studied by using transmission electron microscopy. At diakinesis intercellular substance exists between the primary walls outside the callose walls and within the intercellular spaces of the microsporocytes. This substance still partly remains at tetrad stage. Before meiosis the microsporocytes have lipids in cytoplasm. After microspore mitosis the lipids increase in both number and size. In anaphase the plastids in the microspore cytoplasm accumulated one to several starch grains. In early 2－celled pollen，some starch－containing plastids in vegetative cytoplasm also contain lipids. At all developmental stages，free and polyribosomes are abundant，and a large amount of rough endoplasmic reticulum（RER），dictyosomes and vesicles and numerous mitochondria are present. These features indicate that sythesis and transportation of proteins，saccharides and other substances are active. The microspore lacks a large central vacuole. At anaphase of mitosis，the organelles in microspore cytoplasm are concentrated in the future vegetative cell pole. Microspore at cytokinesis，some RER are close to or associated with the pollen plasma membrane They may fuse with

*收稿日期：1998－12－21 收稿，1999－03－17 接受发表

each other and enlarge the plasma membrane surface to adapt the growth of pollen grain. The functions of dictyosome vesicles at various stages of development are discussed.

Key words：*Allium fistulosum*；Pollen development；Cytoplasm，Ultrastructure

章丘大葱为山东名产，作者曾对其可育系及不育系的花药花粉发育进行了详细、系统的观察（席湘媛；1991）。本文在前文基础上观察了大葱从小孢子母细胞到二细胞花粉早期营养细胞的超微结构，重点分析了细胞质的状况，为花粉发育生物学增添资料。

1 材料和方法

在章丘大葱花序发育一定时期，从大小不同的花蕾取出花药，用压片方法，鉴定花粉发育时期，然后选取需要观察时期的花药，先后用2.5%戊二醛（pH7.2）及1%锇酸进行双固定。系列酒精脱水，环氧丙烷过渡，用Epon 812包埋。用LKB－7800型切片机，用玻璃刀切成超薄切片。醋酸双氧铀及柠檬酸铅染色，于JEM－1200EX电镜下观察及照相。

2 观察结果

大葱花粉为二胞花粉型（席湘媛，1991）。本研究观察了以下各期。

2.1 小孢子母细胞间期

细胞多边形，细胞核大，具一明显的大核仁。初生壁内方某些处，已产生胼胝质壁，初生壁上有胞质通道，通道内未见有胞质存在（图版Ⅰ：1）。管状粗面内质网较多，有的部位膨大成囊泡（图版Ⅰ：2），有的与质体相连及邻近线粒体（图版Ⅰ：3a）。核糖体、多聚核糖体很多，线粒体、质体均多。质体形状多种，大小悬殊，有的在缢裂，基质深，片层不明显（图版Ⅰ：1，3a）。线粒体形状、大小亦不同，基质比质体的浅，多数的嵴较短（图版Ⅰ：3a，3b）。有一定数量高尔基体，小泡丰富（图版Ⅰ：4）。有少量脂滴（图版Ⅰ：3a，3b）。

2.2 小孢子母细胞终变期

胼胝质壁厚薄不一，包围小孢母原生质体，两相邻初生壁间及胞间隙内有胞间物质存在（图版Ⅰ：5）。质体增大，有的仍在缢裂，片层较间期的清楚（图版Ⅰ：6）。线粒体的基质比间期的略浅，嵴明显一些（图版Ⅰ：7）。条状的粗面内质网广泛分布，高尔基体数量增多（图版Ⅰ：6）。有的小孢子母细胞质膜外方有环状多层膜的结构（图版Ⅰ：7）。

2.3 小孢子四分体

小孢子四分体有左右对称及十字交叉型两种（席湘媛，1991）。本观察切到的是左右对称型的两个小孢子的纵切面，四分体外围及小孢子之间均有胼胝质壁，胼胝质外方胞间物质仍有部分存在（图版Ⅱ：8）。高尔基体及小泡、粗面内质网、核糖体及多聚核糖体丰富，细胞两端质体较多，线粒体结构同前，脂滴少量，外壁的头部、基柱棒及基足层已形成，纵行萌发沟1个，沟区无外壁形成（图版Ⅱ：8）。

2.4 小孢子晚期

外壁增厚，有些部位形成很薄的内壁，萌发孔区形成较厚的内壁，但无外壁（图版Ⅱ：9）。细胞质出现了液泡，有个别大一点的偏于细胞一端，为自体吞噬液泡。细胞核仍居细胞

中央（图版Ⅱ；9）。质体仍在缢裂，线粒体增大（图版Ⅱ：9）。

2.5　小孢子有丝分裂期

有丝分裂前期　小孢子核已靠边而与萌发区孔相对（图版Ⅱ：10），这种情况与丛生杓兰（*Cypripedium fasciculatum*）（Brown 等，1994）相同，核的移位，并不是由于中央大液泡形成所致。粗面内质网在细胞两端及核周更多一些。脂滴增大增多。其它细胞器遍布细胞质，稍大的液泡消失（图版Ⅱ：10）。萌发孔区的内壁很厚，外方附着许多亲锇脂滴，它们可能来自退化的绒毡层细胞。内壁含大量的胞质管道（图版Ⅱ：10）。

有丝分裂后期　细胞器出现极性分布，集中于将来的营养细胞极（图版Ⅱ：11）。质体已积累淀粉粒 1 至多个，其它细胞器状况如前（图版Ⅱ：11）。

胞质分裂期　靠壁的生殖核与内方的营养核之间出现小泡（图版Ⅲ：12）。以后小泡互相融合，形成细胞板，完成胞质分裂。营养细胞质的质体继续积累淀粉，可看到有的质体一端已积累淀粉粒，而另一端则仍为质体的片层及膜（图版Ⅲ：13）。脂滴增大增多。有的粗面内质网靠花粉壁分布，有的紧贴质膜并与之相连（图版Ⅲ：12，13）。

2.6　二胞花粉早期

大的营养细胞及小的透镜形的生殖细胞形成，它们之间的细胞壁边缘与花粉内壁相连（图版Ⅲ：14）。经苯胺蓝染色荧光镜鉴定，此壁为胼胝质的。营养细胞质内各种细胞器仍很丰富，脂滴增大增多。有些粗面内质网沿壁及核周分布（图版Ⅲ：14）。质体内的淀粉粒、质地较致密，在有些含淀粉质体内，还有脂滴发生（图版Ⅲ：15）。

3　讨论

在小孢子母细胞减数分裂终变期，首次观察到相邻细胞初生壁间及胞间隙内存在胞间物质，到四分体期，这种胞间质仍部分存在，说明这种物质，在小孢子发生过程中被消耗。花粉萌发孔区内壁很厚，内含许多的胞质管道是由小孢子质膜伸入形成（Fernández，等，1989；EL－Gnazaly 等，1986；Pacini 等，1979），可能有向药室吸收养料供花粉发育的功能（Mascarenhas，1975），并且是配子体蛋白质贮藏的场所，当花粉在柱头上萌发时，将蛋白质释放至柱头表面（Heslop－Harrison，1987）。

小孢子有丝分裂后期，质体已积累淀粉粒 1 至多个，淀粉积累不仅持续到 2 胞花粉早期，到花粉成熟，仍然含有很多淀粉（席湘媛，1991）。质体积累淀粉始期与小麦的相同（Mizelle 等，1989）；比番茄（Polowick 等，1993），老鹳草（*Geranium*）（Weber，1996）的早，比苏丹凤仙花（*Impatiens sultani*）（Van Went 等，1989）及拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）（Kuang 等，1996）的晚。番茄及老鹳草均是在生殖细胞脱离花粉壁后，营养细胞质的质体开始沉积淀粉。苏丹凤仙花在花粉母细胞减数分裂早前期即有含淀粉质体，但在小孢子外壁形成期，质体内的淀粉粒消失。拟南芥是在小孢子大液泡期开始积累淀粉。大葱小孢子母细胞间期即有脂滴存在，小孢子分裂期开始，脂滴增多、增大。淀粉与脂肪均为花粉的能源贮备，为二胞花粉进一步发育成熟准备了物质基础。一般产生油脂的质体为造油体，但大葱二胞花粉早期的营养细胞质内的一些含淀粉质体（造粉体）亦含脂滴，它们可能由淀粉粒水解转化而成。

发育各期，核糖体及多聚核糖体丰富，很多粗面内质网、高尔基体及小泡、线粒体，显

示蛋白质、糖类及其它物质合成及运输的活跃，为减数分裂、四分体的形成、小孢子的生长与有丝分裂，生殖细胞与营养细胞的形成提供对蛋白质、糖类及其它物质的需要。在小孢子母细胞期，有的内质网与质体相连，可能有利于它们之间物质的运输。二者相连的情况曾见于番茄的四分体、液泡化小孢子期（Polowick 等，1993），及百合科植物的二胞花粉期（Rodrigue－Garacia 等，1978）。在小孢子母细胞终变期，质膜外方环状多层膜结构，增加了膜的面积，可能有促进细胞之间的物质运输的作用。在小孢子胞质分裂期，粗面内质网还沿营养细胞质膜分布，有的与质膜贴近或相连，这些粗面内质网或有可能与质膜相融合，可以扩大质膜面积，适应于花粉的生长。不同发育时期的高尔基体小泡的作用分析如下：在小孢母终变期，高尔基体小泡的作用可能是参与二分体细胞板的建成。四分体小孢子至二胞早期营养细胞的高尔基体小泡，先后可能为小孢子及花粉的萌发孔区及其它部位的内壁的形成及增厚提供建壁物质。小孢子有丝分裂期的高尔基体小泡，还是营养细胞与生殖细胞之间细胞板的构成分子。

参 考 文 献

席湘媛，1991．大葱雄性可育系及雄性不育系的花药花粉发育的比较研究〔J〕．植物学报，**33**（10）：770～775

Brown R C，Lemmon B E，1994．Pollen mitosis in the slipper orchid *Cypridium fasciculatum*〔J〕．*Sex Plant Reprod*，**7**：87～94

El－chazaly G，Jensen W A，1986．Studies of the development of wheat（*Triticum aestivum*）pollen 1．Formation of the pollen wall and Ubisch bodies〔J〕．*Grana*，**25**：1～29

Fernández M C，Rodriguez－Garcia M I，1989．Developmental changes in the aperture during pollen grain ontogeny in *Olea europaea* L〔J〕．*New Phytol*．**111**：717～723

Heslop－Harrison J，1987．Pollen germination and pollen tube growth〔J〕．*Int Rev Cytol* **107**：1～78

Knox R B，Heslop－Harrison J，1970．Pollen－wall proteins：localizations and enzymic activity〔J〕．*J Cell Science*，**6**：1～27

Kuang A．Musgrave M E，1996．Dynamics of vegetative cytoplasm during generative cell formation and pollen maturation in *Arabidopsis thaliana*〔J〕．*Protoplasma*，**194**：81～90

Mascarenhas，J P，1975．The biochemistry of angiosperm pollen development〔J〕．*Bot Rev*，**41**：259～314

Mizelle M B，Sethi R，Ashton M E *et al*，1989．Development of the pollen grain and tapetum of wheat（*Triticum aestivum*）in untreated plants and plants treated with chemical hybridizing agent RH0007〔J〕．*Sex Plant Reprod*．**2**：231～253

Paci E，Juniper B E，1979．The ultrastructure of pollen grain development in the olive，*Olea europaea* I．Protein in the pore〔J〕．*New Phytol*，**83**：157～163

Polowick P L，Sawhney V K，1993．An ultrastructural study of pollen development in tomato（*Lycopersicon esculentum*）．I．Tetrad to early binucleate microspore stage〔J〕．*Can J Bot*．**71**：1039～1047

Rodriguez－Garcia M I，Garcia A，1978．Differentiation of the plastid population during microsporogenesis and the development of the pollen grain in the Liliaceae〔J〕．*Biol Cell*，**33**：63～70

Van Went J，Cresti M，1989．Cytoplasmic differentiation during tetrad formation and early microspore development in *Impatiens sultani*〔J〕．*Protoplasma*，**148**：1～7

Weber M．1996．Apertural chambers in *Geranium*：development and ultrastructure〔J〕．*Sex Plant Reprod*，**9**：102～106

图版说明

C 胼胝质；Ch 染色体；D 高尔基体；Gc 生殖细胞；GN 生殖核；I 花粉内壁；Ia 萌发孔区的内壁；L 脂滴；M 线粒体；N 细胞核；P 质体；RER 粗面内质网；S 淀粉粒；V 液泡；Vc 营养细胞；VN 营养核；

图版Ⅰ　1～4，**小孢子母细胞间期**　1. **小孢子母细胞示初生壁的胞质通道（箭头）。**2. **粗面内质网及膨大的槽库（箭头）。**3a. **粗面内质网与质体相连及邻近线粒体（箭示短嵴）。**3b. **线粒体。**4. **高尔基体及小泡。**5～7，**小孢子母细胞终变期。**5. **小孢子母细胞示胞质通道（箭头）及胞间物质（箭）。**6. **高尔基体，粗面内质网及质体。**7. **环状多层膜（箭）。**

图版Ⅱ　8. **四分体的** 2 **个小孢子示外壁的头部、基柱棒、基足层、无外壁的萌发沟区（箭）及胞间物质（星号）。**9. **小孢子晚期示自体吞噬液泡（箭）。**10. **小孢子有丝分裂前期示萌发沟区外方的嗜锇脂滴（箭头），含很多胞质管道的萌发孔区内壁（**Ia**）及粗面内质网（箭）。**11. **小孢子有丝分裂后期，细胞器集中分布于未来营养细胞极、质体含淀粉粒（箭）。**

图版Ⅲ　12. **小孢子胞质分裂期示营养核、生殖核之间的小泡（箭头），注意一些粗面内质网紧靠花粉壁（箭）。**13. **小孢子胞质分裂期，有的质体（**P**）一端积累了淀粉粒，有的粗面内质网（**RER**）与花粉质膜紧贴及相连。**14. **二胞早期花粉，箭号示营养细胞与生殖细胞之间的壁。一些粗面内质网分布在营养核周围（小箭头）及靠近花粉壁（大箭头）。**15. **图** 14 **之营养细胞质，示含淀粉质体亦含脂滴，线粒体具短嵴（箭）。**

Explanation of Plates

C：Callose；Ch：Chromosome；D：Dictyosome；Gc：Generative cell；GN：Generative nucleus；Ⅰ：Intine；Ia：Intine of aperture；L：Lipid；M：Mitochondrion；N：Nucleus；P：Plastid；RER：Rough endoplasmic reticulum；S：Starch grain；V：Vacuole；Vc：vegetative cell；VN：Vetetative nucleus；

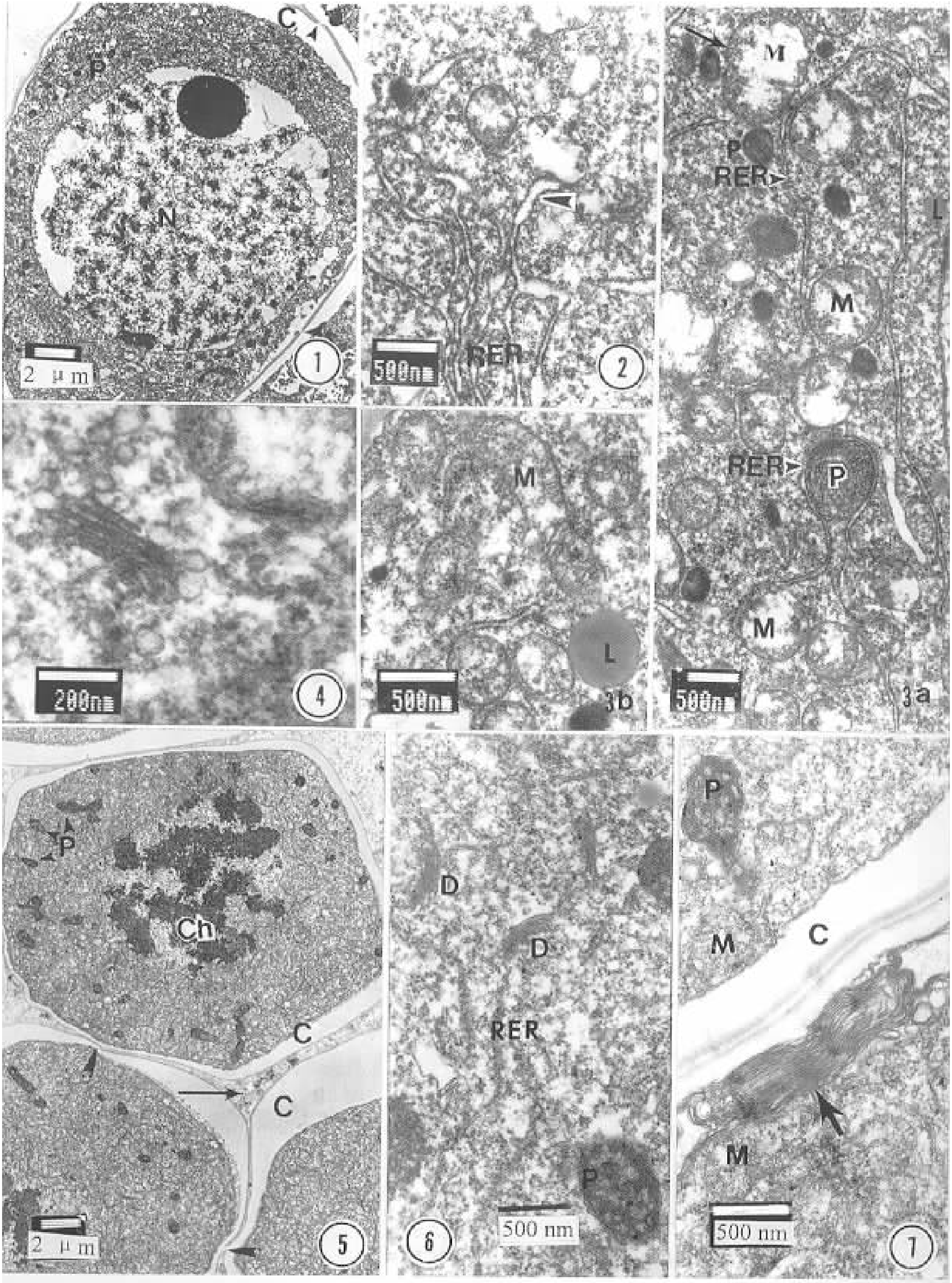
Plate Ⅰ　1～4. Microsporocyte at interphase. 1. Microsporocyte showing cytoplasmic channels of the primary wall (arrows). 2. Rough endoplasmic reticulum (RER) and dilated cistarnae (arrowhead). 3a. RER associated with plastid and near mitochondria. 3b. Mitochondria. 4. Dictyosomes and vesicles. 5～7. Microsporocyte at diakinesis. 5. Microsporocyte showing cytoplasmic channels (arroweads) and intercellular substance (arrow). 6. Dictyosomes, RER and plastid. 7. Circular multilayered membranes (arrow).

Plate Ⅱ　8. Two microspores of a tetrad showing heads, bacula and foot layer of exine, furrow without exine (arrow) and intercellular substance (asterisks). 9. Late microspore showing autophagic vacuo le (arrow). 10. Microspore at prophase showing osmiophilic lipids (arrowheads) outside aperture, intine of aperture (Ia) containing many cytoplasmic tubes and RER (arrows). 11. Microspore at anaphase, organelles are concentrated in the future vegetative cell pole, plastids contain starch grains (arrow).

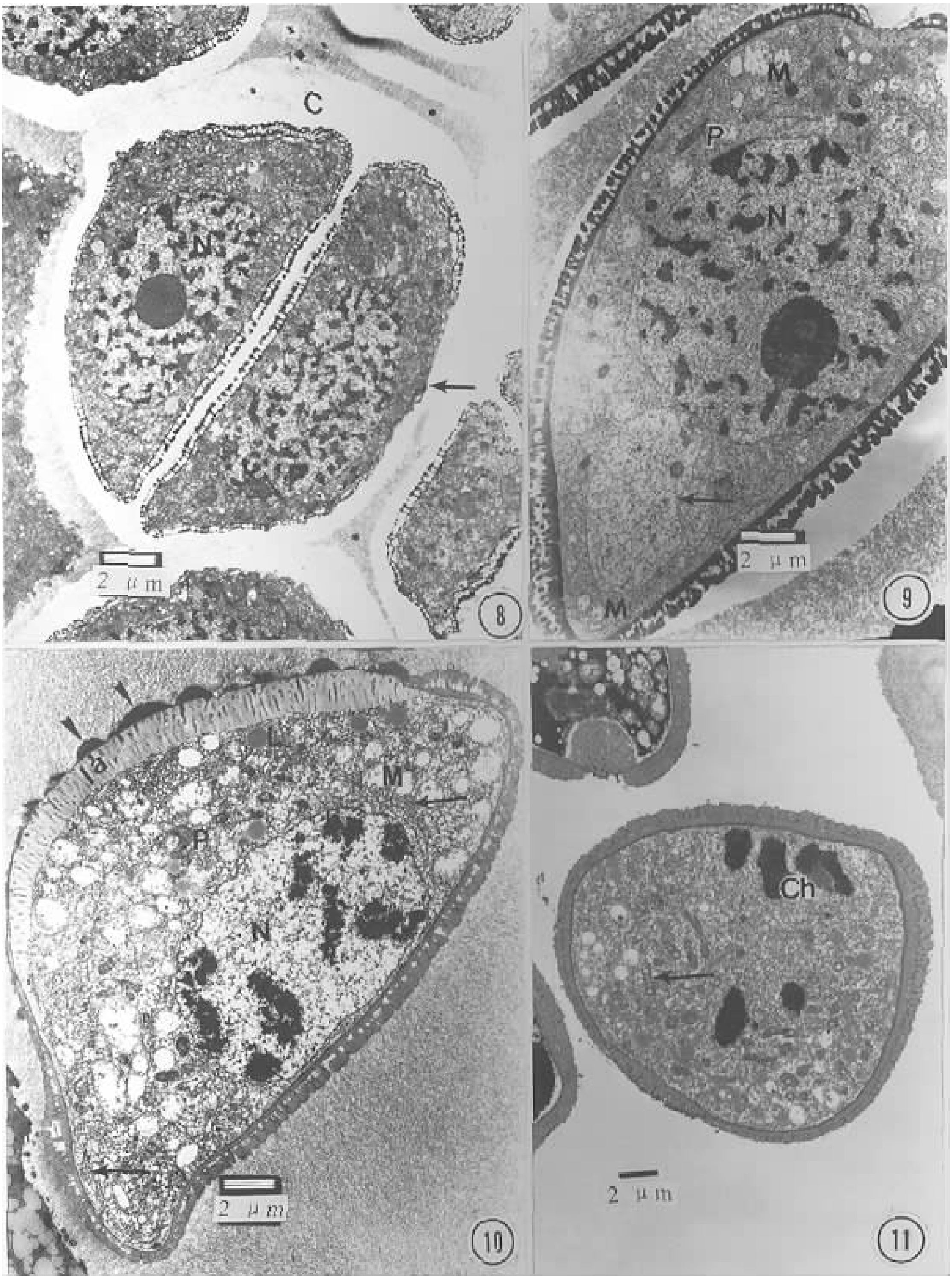
Plate Ⅲ　12. Microspore at cytokinesis showing vesicles (arrowheads) between vegetative nucleus and generative nucleus. Note some RER close to pollen wall (arrows). 13. Microspore at cytokinesis, some plastids (p) containing starch at an end, and some RER close to and associated with plasma membrane of pollen. 14. Early 2－celled pollen showing wall between vegetative and generative cells, some RER around vegetative nucleus (small arrowheads) and some near the pollen wall (large arrow heads). 15. Vegetative cytoplasm of fig. 14 . showing starch－containing plastids also containing lipids and mitochondrion with short cristae (arrow).

席湘媛 :大葱小孢子母细胞至二胞早期花粉发育的超微结构观察 **图版Ⅰ**

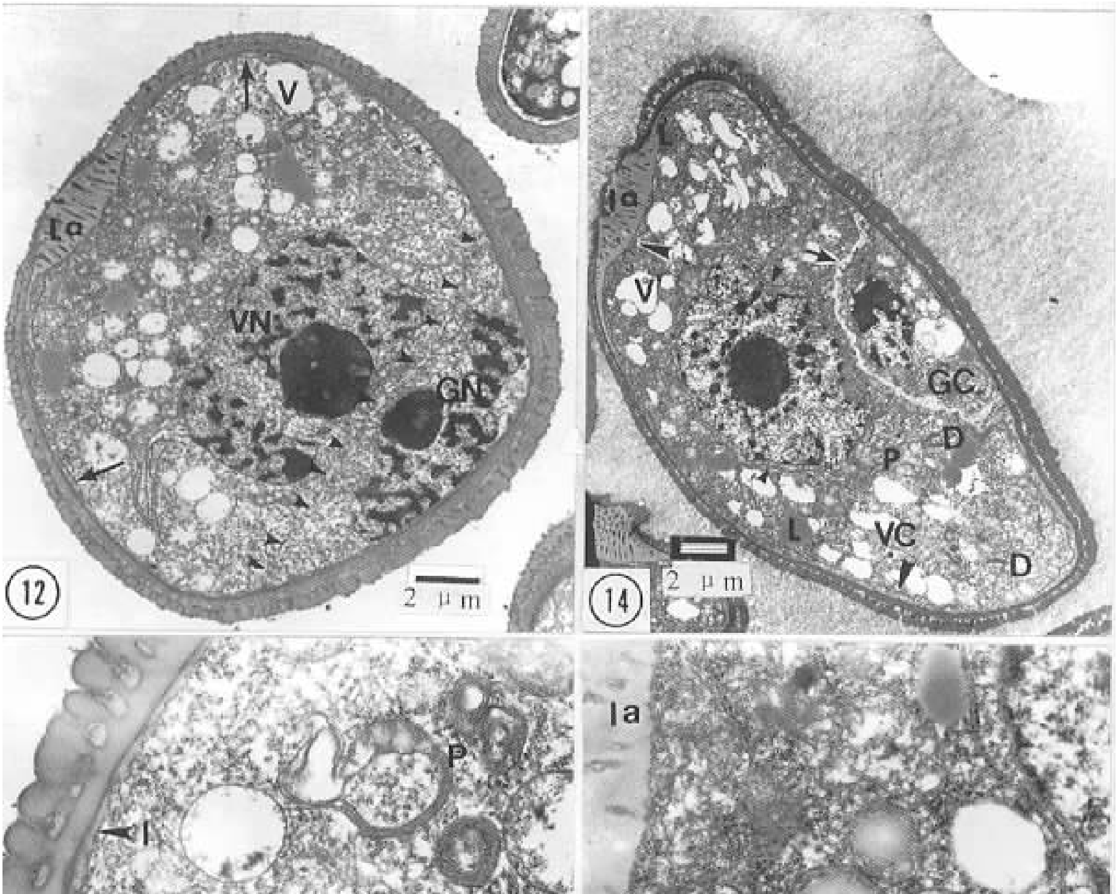
XI Xiang - Yuan :*Observations on Utrastructure of Pollen Development from Microsporocyte to Early Tow - Celled Pollen in Welsh Onion* (Allium fistulosum *L.*) *Plate* Ⅰ



See explanation at the end of text



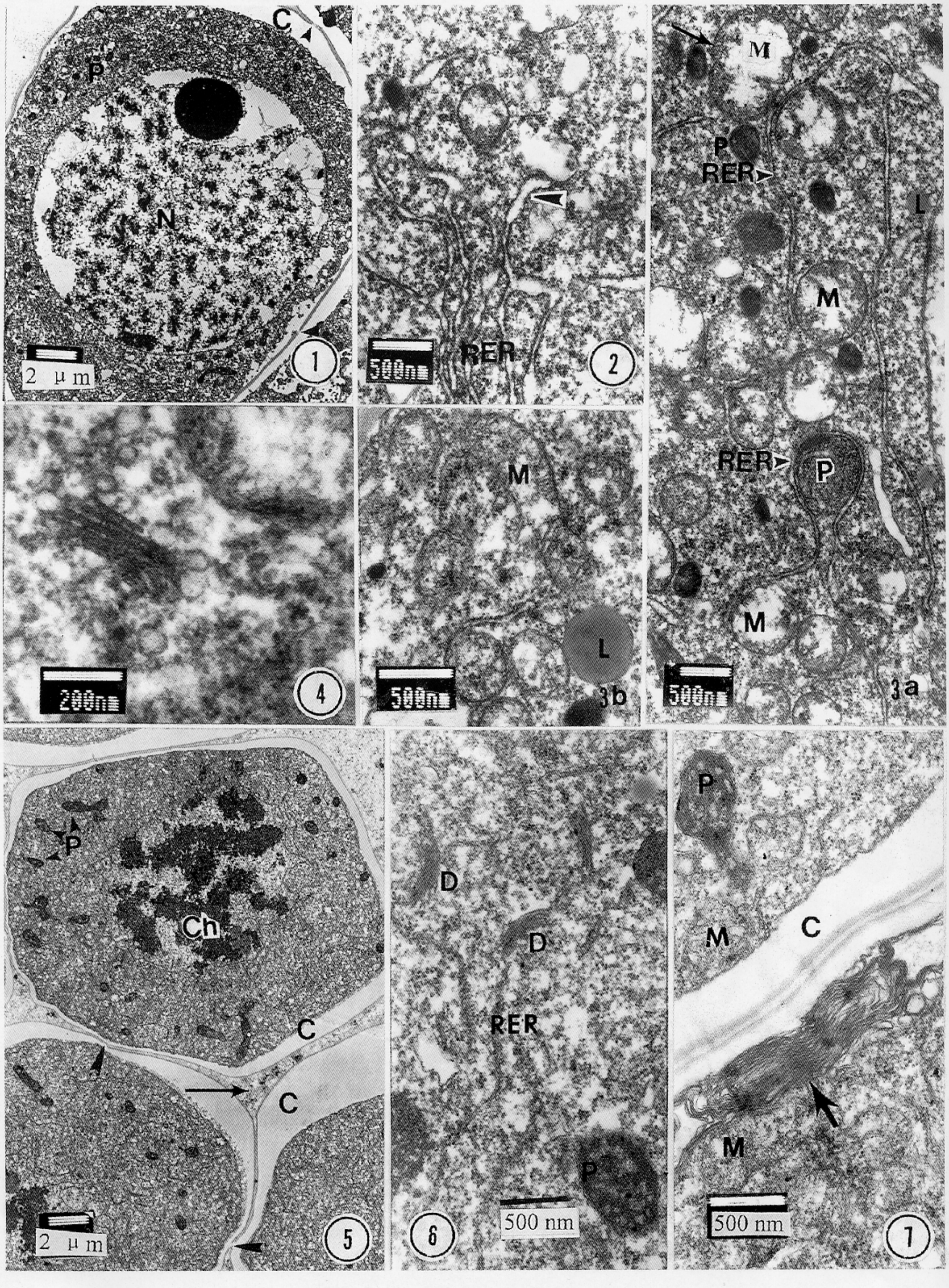
See explanation at the end of text



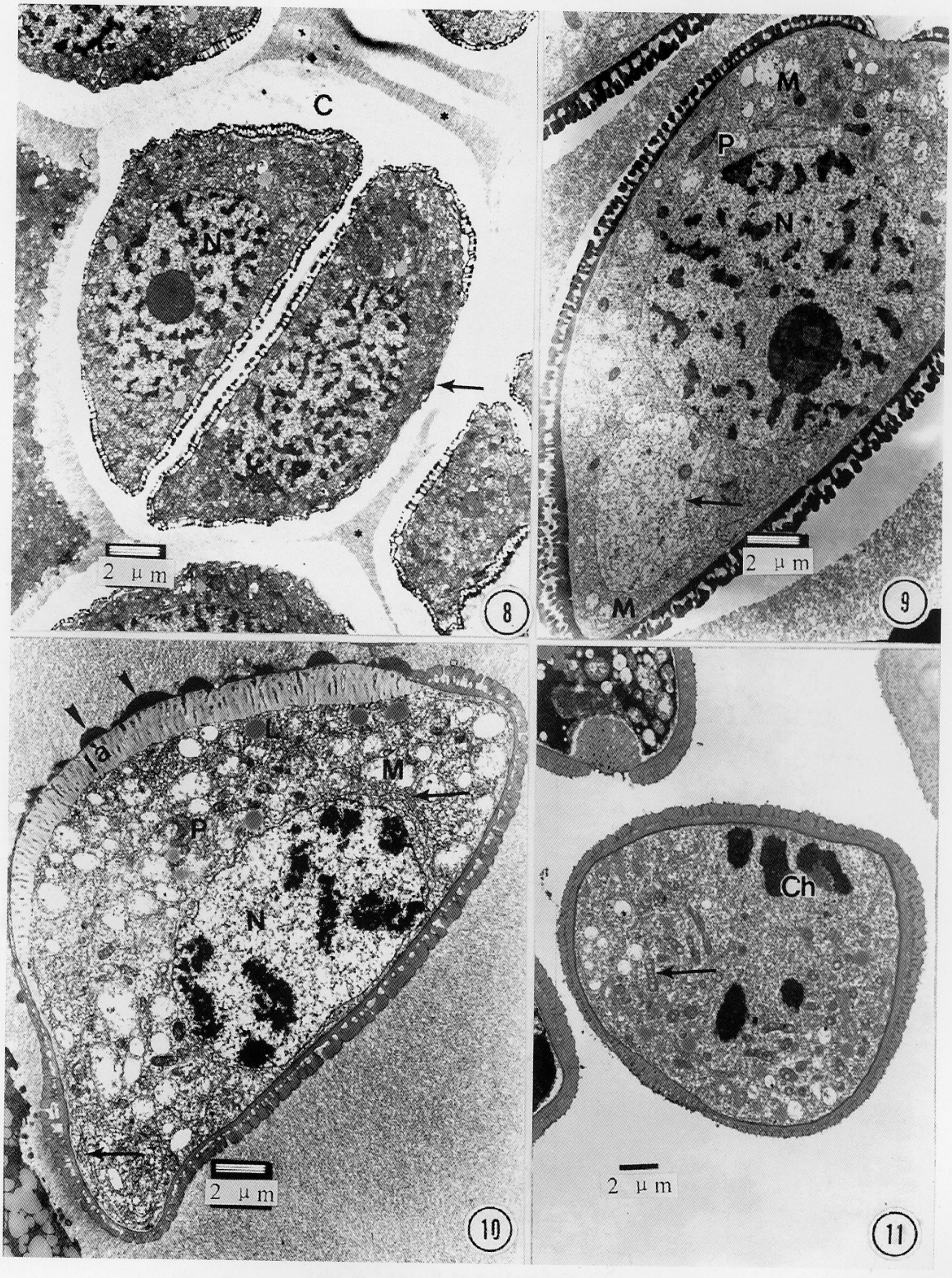
See explanation at the end of text

席湘媛：大葱小孢子母细胞至二胞早期花粉发育的超微结构观察 图版 I

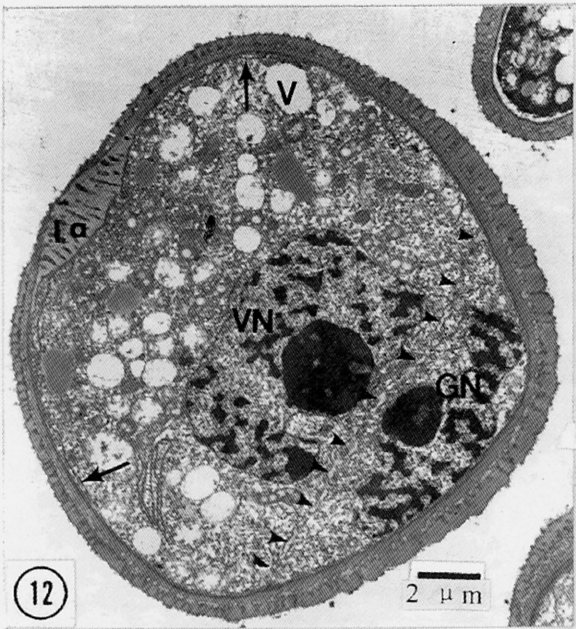
XI Xiang – Yuan: Observations on Ultrastructure of Pollen Development from Microsporocyte to Early Tow – Celled Pollen in Welsh Onion（*Allium fistulosum* L.） Plate I

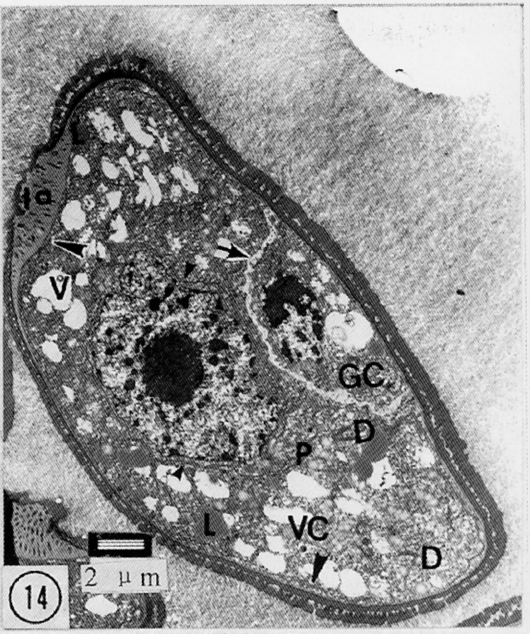


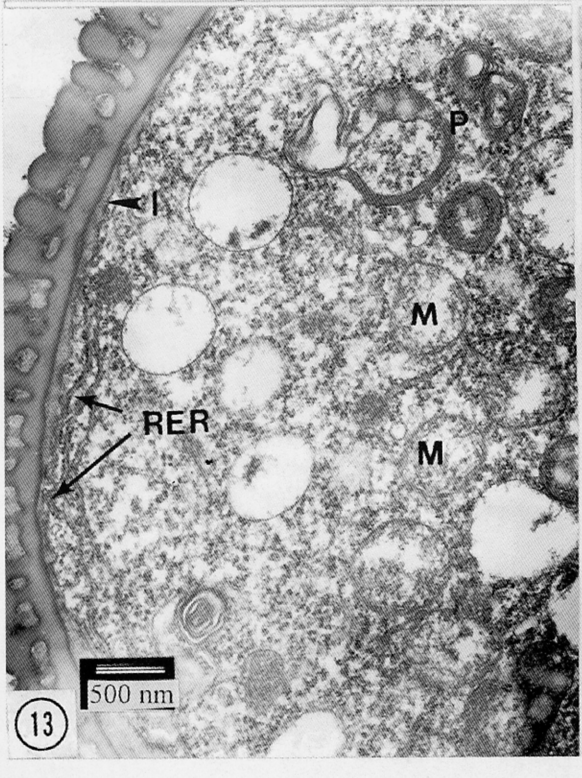
See explanation at the end of text

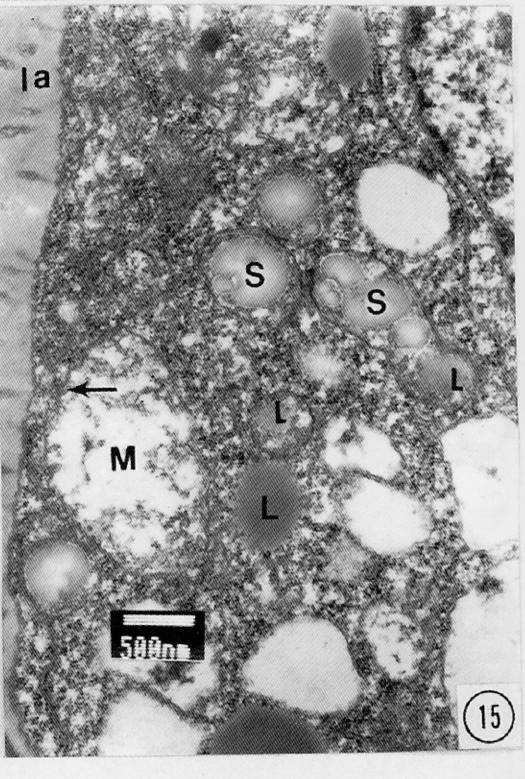


See explanation at the end of text









See explanation at the end of text